

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 *Camellia sinensis*

##### 2.1.1 Taksonomi

*Camellia sinensis* memiliki taksonomi sebagai berikut ;

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Subkingdom	: <i>Viridiplantae</i>
Infrakingdom	: <i>Streptophyta</i>
Superdivision	: <i>Embryophyta</i>
Division	: <i>Tracheophyta</i>
Subdivision	: <i>Spermatophytina</i>
Class	: <i>Magnoliopsida</i>
Superorder	: <i>Asteranae</i>
Order	: <i>Ericales</i>
Family	: <i>Theaceae</i>
Genus	: <i>Camellia</i> L.
Species	: <i>Camellia sinensis</i>

(Rahman, 2016)



(Tang, *et al.*, 2015)

Gambar 2.1  
Daun *Camellia sinensis*

#### 2.1.2 Morfologi

*Camellia sinensis* adalah tumbuhan perdu yang termasuk dalam famili *Theaceae* yang dapat mencapai ketinggian 0.6 – 1.5 m. *Camellia sinensis* memiliki daun yang berwarna hijau terang, memiliki tangkai yang pendek, memiliki batas yang jelas, memiliki panjang yang bervariasi dari 5 - 30 cm dengan lebar 4 cm. Tumbuhan teh hijau memiliki perakaran yang dangkal dengan diameter akar 1-2 mm, sulit menembus lapisan tanah, dan peka terhadap keadaan fisik tanah. Bunga tumbuh pada ketiak daun, berbentuk bulat, berwarna putih dan halus seperti lilin. Kelopak bunga berjumlah 5-7 helai dan memiliki benangsari berwarna kuning berjumlah 20-100 buah dengan dua kantong sari dan bakal buah. Bunga dapat ditemukan sendiri atau berkelompok dua atau empat (Akhtar, Khan & Mahmood, 2010; Siregar, 2016).

### 2.1.3 Habitat dan distribusi geografis

*Camellia sinensis* merupakan tanaman perdu yang tumbuh di daerah tropis dan subtropis yaitu daerah dengan letak geografis 45° LU sampai 30° LS. Ditemukan pada daerah dengan ketinggian 400 m sampai 1200 m dengan suhu optimum 13°C - 25°C dan pH sekitar 4-6 (Siregar, 2016).

*Camellia sinensis* pertama kali dibudidayakan di Cina dan sekarang telah meluas dan dapat ditemukan di Jepang, Bangladesh, Kenya, India, Ethiopia, termasuk di Indonesia (Rahman, 2016). Teh dikenal di Indonesia sejak tahun 1686 namun hanya digunakan sebagai tanaman hias. Pada tahun 1728, teh mulai dibudidayakan di Hindia-Belanda, dan pada tahun tersebut pemerintah Belanda mulai mendatangkan biji-biji teh secara besar-besaran dari Cina untuk dibudidayakan terutama di pulau Jawa (Syah, 2006; Julaeha, 2010).

### 2.1.4 Kandungan kimia

Tumbuhan menghasilkan metabolit sekunder yang memiliki mekanisme pertahanan melawan patogen. Secara umum, metabolit sekunder pada tumbuhan dapat dikelompokkan menjadi tiga kelompok :

#### a) *Terpenens*

Yang termasuk dalam kelompok ini yaitu *monoterpenens*, *diterpenens*, *triterpenens*, *tetraterpenens*, *steroids*, *alkaloids*, *cardiac glycosides*, dan *sterol*.

#### b) *Phenolic compound*

Yang termasuk dalam kelompok ini yaitu *coumarin*, *lignan*, *flavonoid* dan *tannin*.

#### c) *Nitrogen compound*

Yang termasuk dalam kelompok ini yaitu *alkaloids* dan *glucosinolates* (Freiesleben & Jager, 2014).

#### 2.1.5 Peran kandungan *Camellia sinensis* terhadap jamur

*Camellia sinensis* menghasilkan beberapa metabolit sekunder yaitu :

##### a) Alkaloid

Alkaloid mengandung basa organik yaitu nitrogen yang memiliki efek fisiologis pada manusia. Alkaloid juga dapat berperan sebagai anti jamur melalui mekanisme inhibisi biosintesis ergosterol yang berakibat terganggunya pembentukan membran sel jamur (Freiesleben & Jager, 2014; Rahman, 2016).

##### b) Flavonoid

Flavonoid merupakan komponen fenol yang paling umum dan tersebar luas dalam jaringan tumbuhan. Flavonoid dapat berperan sebagai anti jamur dengan dua mekanisme. Mekanisme pertama yaitu dengan mengganggu pembentukan membran sel jamur melalui inhibisi biosintesis ergosterol. Mekanisme kedua yaitu dengan mengganggu homeostasis mitokondria sel jamur melalui penurunan potensial membran mitokondria dan inhibisi pompa ion pada proses metabolisme sel jamur sehingga berakibat turunnya produksi ATP pada sel jamur (Freiesleben & Jager, 2014; Rahman, 2016).

##### c) Saponin

Saponin berperan sebagai anti jamur melalui mekanisme inhibisi biosintesis ergosterol yang merupakan salah satu komponen penting

dalam pembentukan membran sel jamur sehingga mengganggu pembentukan membran sel jamur (Freiesleben & Jager, 2014).

d) Tanin

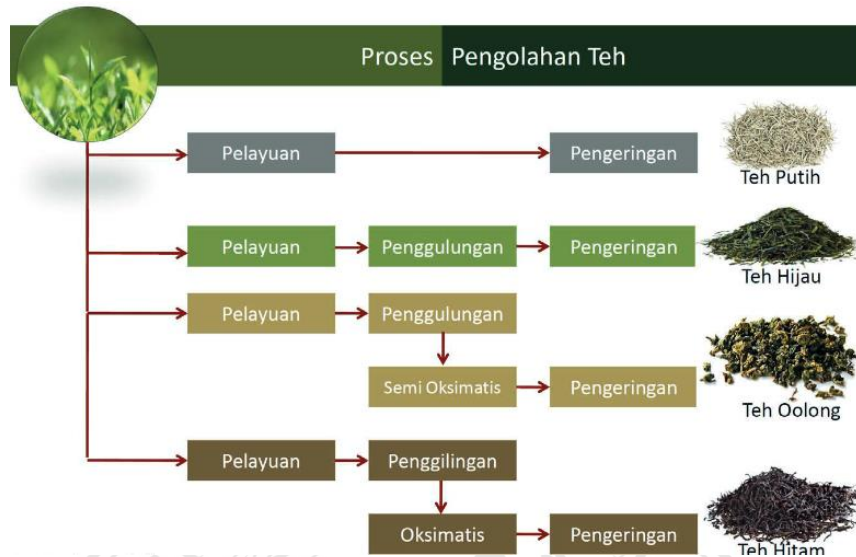
Tanin merupakan komponen fenol yang larut dalam air. Tanin dapat berperan sebagai anti mikroba dengan menginhibisi pertumbuhan jamur, bakteri dan juga virus. Mekanisme tanin sebagai anti jamur adalah melalui inhibisi biosintesis ergosterol yang menyebabkan terganggunya pembentukan membran sel jamur. Kandungan tanin selain dapat mempengaruhi membran sel jamur, juga dapat mempengaruhi dinding sel jamur dengan cara menginhibisi kitin yang merupakan salah satu komponen penyusun dinding sel pada jamur, sehingga menyebabkan gangguan integritas dinding sel jamur dan mengakibatkan rusaknya dinding sel jamur (Freiesleben & Jager, 2014; Alfiah, Khotimah & Turnip, 2015; Rahman, 2016).

Dari beberapa kandungan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh *Camellia sinensis* yang memiliki peran dapat menginhibisi pertumbuhan jamur melalui berbagai mekanisme dapat berdampak terhadap kematian sel jamur dan menyebabkan turunnya pertumbuhan jamur.

#### 2.1.6 Jenis Teh

Berdasarkan proses pengolahannya, jenis teh dapat dibedakan menjadi teh tanpa fermentasi teh semi fermentasi, serta teh fermentasi. Teh yang dalam proses pengolahannya tidak memerlukan proses fermentasi yaitu teh hijau dan teh putih. Sedangkan teh yang diproses melalui semi fermentasi yaitu teh

oolong dan teh yang melalui proses fermentasi yaitu teh hitam (Rohdiana, 2015).



(Rohdiana, 2015)

Gambar 2.2  
Proses Pengolahan Teh

Diantara keempat jenis teh yang ada, teh putih merupakan teh yang mengalami proses pengolahan yang paling sederhana yaitu pelayuan dan pengeringan. Sedangkan teh hijau dalam pengolahannya memerlukan tiga tahap yaitu pelayuan, penggulungan dan pengeringan. Teh oolong memerlukan empat tahap dalam pengolahannya yaitu pelayuan, penggulungan, semi oksimatis dan pengeringan. Teh hitam dalam pengolahannya juga memerlukan empat tahap yaitu pelayuan, penggulungan, oksimatis dan pengeringan (Rohdiana, 2015).

Kandungan fungsional dalam teh seperti komponen fenol yang tertinggi terdapat pada teh putih karena teh putih mengalami proses pengolahan yang paling singkat. Namun, teh putih amat jarang diproduksi dibandingkan dengan teh lain sehingga harganya relatif lebih mahal. Teh putih dan teh oolong banyak di produksi oleh perkebunan di China dan Taiwan. Sedangkan

di Indonesia, produksi teh paling tinggi yaitu teh hijau dan teh hitam. Teh hijau memiliki kandungan fenol yang lebih tinggi dibandingkan dengan teh hitam karena proses pengolahan teh hijau lebih singkat dibandingkan dengan teh hitam (Rohdiana, Arif & Budiman, 2013; Rohdiana, 2015).

Tabel 2.1 Komponen Fenol dalam Teh Hijau dan Teh Hitam

<b>Jenis Teh</b>	<b>% komponen fenol teh kering</b>
Teh Hijau	23,18 ± 1,22
Teh Hitam Orthodox	14,23 ± 0,91
Teh Hitam CTC	13,93 ± 0,87

(Rohdiana, Arif & Budiman, 2013)

#### 2.1.7 Manfaat Teh Hijau

Teh hijau merupakan salah satu minuman yang banyak dikonsumsi dan banyak digunakan sebagai minuman kesehatan tradisional di Asia karena dikenal dengan berbagai manfaatnya. Pengobatan tradisional Cina juga menganjurkan minum teh hijau untuk mencegah berbagai penyakit didukung dengan berbagai penelitian yang menyatakan bahwa teh hijau mungkin ikut menyumbang pencegahan dan mengurangi risiko penyakit kardiovaskular, kanker, dan dapat berperan dalam kesehatan oral, penurunan berat badan, anti bakteri, dan lain-lain (Lorenzo & Munekata, 2016; Wulandari & Rahmanisa, 2016). Sebuah penelitian yang dilakukan di Cina dan dicantumkan dalam *Asian Pasific Journal of Tropical Biomedicine* menyatakan bahwa peningkatan konsumsi teh hijau menurunkan risiko terjadinya penyakit jantung koroner (Lorenzo & Munekata, 2016).

Teh hijau yang mengandung komponen fenol yang tinggi juga dapat berperan sebagai anti jamur dengan berbagai mekanisme yang berbeda.

Sebuah penelitian yang dilakukan di Universitas Brawijaya Malang dan dicantumkan dalam jurnal Teknotan menyimpulkan bahwa teh hijau dapat menghambat pertumbuhan jamur penyebab penyakit kulit yaitu *Candida albicans* (Freiesleben & Jager, 2014; Widyasanti, Marpaung & Nurjanah, 2016).

#### 2.1.8 Teknik Ekstraksi

Teknik yang paling sering digunakan untuk isolasi zat aktif antioksidan pada tanaman adalah ekstraksi pelarut yaitu metode pemisahan komponen dari suatu campuran menggunakan suatu pelarut yang bertujuan untuk menarik zat aktif dalam sampel. Pelarut yang digunakan didasarkan pada kemampuan melarutkan zat aktif dalam jumlah yang maksimum, sehingga terbentuklah ekstrak yaitu hasil ekstraksi yang mengandung berbagai komponen kimia (Susanty & Bachmid, 2016).

Pemilihan pelarut merupakan salah satu faktor yang menentukan keberhasilan proses ekstraksi. Pada suatu penelitian yang dilakukan di Palembang dalam proses ekstraksi daun salam India menggunakan pelarut etanol tidak menunjukkan adanya perubahan warna atau warnanya tetap hijau daun. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan pelarut etanol dalam proses ekstraksi tidak merusak komponen dari daun. Dalam penelitian tersebut juga menyimpulkan bahwa konsentrasi optimal etanol sebagai pelarut dalam proses ekstraksi yaitu sebesar 70% (Azis, Febrizky & Mario, 2014).



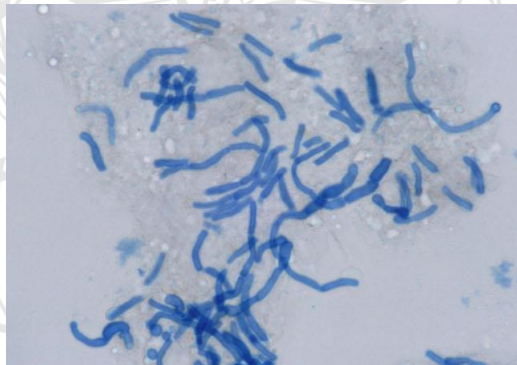
## 2.2 *Pityrosporum ovale*

### 2.2.1 Taksonomi

*P. ovale* memiliki taksonomi sebagai berikut

Kingdom : Fungi  
 Filum : *Basidiomycota*  
 Subfilum : *Ustilaginomycotina*  
 Kelas : *Exobasidiomycetes*  
 Ordo : *Malasseziales*  
 Famili : *Malasseziaceae*  
 Genus : *Malassezia*  
 Species : *Pityrosporum ovale*

(Gaitanis *et al*, 2012)



(Harada, *et al*, 2015)

Gambar 2.3

*P. ovale* dengan pewarnaan *methylene blue*

### 2.2.2 Sinonim

Nama lain dari *P. Ovale* adalah *Malassezia furfur* (Gaitanis *et al*, 2012;

Sharma, Sharma & Sharma, 2012).

### 2.2.3 Morfologi dan identifikasi

*P. ovale* adalah jamur lipofilik anggota genus *Mallasezia*. Morfologi *Pytirosporum ovale* berkarakteristik oval seperti botol, berukuran 1-2 x 2-4 mm, memiliki dinding sel yang tebal, dan memperbanyak diri dengan cara blastospora atau tunas (Prihastutik, 2008; Cafarchia, *et al.*, 2011). Blastospora dibentuk dari proses pertunasan sederhana dimana tunas tidak melepaskan diri dari induknya tetapi membentuk kumpulan tunas yang menempel pada sel yang memanjang atau pseudomiselium, tunas-tunas sel tersebut tetap berbentuk oval sehingga membentuk cabang baru (Rahayu, 2011).

*P. ovale* merupakan normal flora yang umumnya dapat ditemukan pada kulit manusia. Pada kondisi normal, kecepatan pertumbuhan fungi *P. ovale* kurang dari 47%. Akan tetapi, jika ada faktor pemicu yang dapat mengganggu keseimbangan *P. ovale*, maka akan terjadi peningkatan kecepatan pertumbuhan jamur *P. ovale* yang dapat mencapai 74% (Cafarchia, *et al.*, 2011; Rahayu, 2011). *P. ovale* banyak ditemukan pada daerah kulit yang memiliki banyak kelenjar sebacea karena sifat lipofiliknya membutuhkan lipid untuk pertumbuhannya (Ningrum, Prasetyo & Kristanti, 2017).

*P. ovale* yang merupakan normal flora kulit dapat menjadi patogen apabila dipicu oleh beberapa faktor diantaranya adalah suhu dan kelembapan yang tinggi, kulit yang berminyak dan terapi yang menekan sistem imun atau *immunospressive* seperti terapi kortikosteroid (Ljubojevic, *et al.*, 2002).

## 2.3 Pitiriasis versikolor

### 2.3.1 Definisi

Pitiriasis versikolor adalah infeksi jamur superfisial kronik, yang disebabkan oleh jamur *Malassezia* dengan karakteristik hiperpigmentasi atau hipopigmentasi dengan lesi berbentuk bulat hingga oval, berskuama halus dan sering ditemukan pada daerah kulit yang memiliki banyak kelenjar sebacea seperti leher dan lengan bagian atas (Harada *et al.*, 2015; Bramono & Budimulja, 2016).

### 2.3.2 Etiologi

Pitiriasis versikolor disebabkan oleh *Malassezia furfur* atau yang dikenal juga dengan nama *Pityrosporum ovale*, ragi yang bersifat lipofilik yang merupakan flora normal pada kulit (Bramono & Budimulja, 2016; Hengge, Lupi & Tyring, 2017).

### 2.3.3 Epidemiologi

Pitiriasis versikolor merupakan penyakit universal, terutama ditemukan di daerah tropis dengan prevalensi mencapai 50% pada populasi di daerah tropis di dunia. Tidak dapat perbedaan berdasarkan jenis kelamin, tetapi terdapat perbedaan kerentanan berdasarkan usia yakni lebih banyak ditemukan pada remaja dan dewasa muda. Kelainan ini merupakan penyakit yang terbanyak ditemukan diantara berbagai penyakit kulit akibat jamur (Bramono & Budimulja, 2016; Gilchrest, *et al.*, 2012; Yahya, 2017).

### 2.3.4 Patogenesis (Ljubojevic, *et al.*, 2002; Bramono & Budimulja, 2016)

*Malassezia sp* yang semula berbentuk ragi saprofit akan berubah menjadi bentuk miselia yang menyebabkan kelainan kulit pitiriasis versikolor.

Kondisi atau faktor predisposisi yang diduga dapat menyebabkan perubahan tersebut berupa suhu, kelembapan lingkungan yang tinggi, faktor genetik, hiperhidrosis, kondisi immunosupresif dan malnutrisi.

*Malassezia sp* memproduksi asam dikarboksilat yang mengganggu pembentukan pigmen melanin, dan memproduksi metabolit *pityriacitrin* yang mempunyai kemampuan absorpsi sinar ultra violet sehingga menyebabkan lesi hipopigmentasi. Mekanisme terjadinya lesi hiperpigmentasi belum jelas, tetapi satu studi menunjukkan pada pemeriksaan mikroskop elektron didapati ukuran melanosom yang lebih besar dari normal

#### 2.3.5 Manifestasi Klinis

Lesi pitiriasis versikolor terutama terdapat pada daerah kulit yang memiliki banyak kelenjar sebacea, seperti badan bagian atas, leher dan perut. Kadang ditemukan pada wajah dan skalp, dapat juga ditemukan pada genitalia, aksila dan lipat paha (Bramono & Budimulja, 2016; Ningrum, Prasetyo & Kristanti, 2017).

Lesi berupa makula berbatas tegas, dapat hipopigmentasi, hiperpigmentasi, dan kadang eritematosa, terdiri atas berbagai ukuran dan berskema halus. Warna pada lesi bervariasi dari hampir putih, kemerahan hingga berwarna kecoklatan. Umumnya tidak disertai gejala subjektif, hanya berupa keluhan kosmetik meskipun terkadang ada pruritus ringan (Bramono & Budimulja, 2016; Gilchrist, *et al.*, 2012).

### 2.3.6 Diagnosis

Dugaan diagnosis pitiriasis versikolor jika ditemukan gambaran klinis adanya lesi di daerah predileksi berupa makula berbatas tegas berwarna putih, kemerahan, sampai dengan hitam, yang berskuama halus. Pemeriksaan dengan lampu Wood untuk melihat fluorosensi kuning keemasan akan membantu diagnosis klinis. Fluoresensi lesi kulit pada pemeriksaan lampu Wood berwarna kuning keemasan dan pada pemeriksaan KOH 20% tampak gambaran spora dan miselium yang sering dilukiskan sebagai *spaghetti and meatball appearance* (Tan & Reginata, 2015; Bramono & Budimulja, 2016).

#### 2.3.6.1 Evoked Scale Sign (Tan & Reginata, 2015)

Terjadi perubahan struktural lapisan kulit akibat peningkatan kerapuhan stratum korneum, mungkin disebabkan gangguan parsial fungsi sawar kulit dan peningkatan *transepidermal waterloss*. Keratinase yang diproduksi fase hifa dari spesies ini mampu menghidrolisis keratin dan memfasilitasi pertumbuhan jamur di stratum korneum. Jika diregang, stratum korneum akan mengendur, skuama akan terlihat. Tanda *evoked scale sign* hanya ditemukan pada infeksi pitiriasis versikolor

Uji provokasi skuama dapat dilakukan dengan cara pemeriksa menggunakan ibu jari dan telunjuk atau kedua jari tangan meregangkan kulit searah 180 derajat lesi kering dapat digores dengan ujung kuku untuk memunculkan skuama yang melapisi daerah lesi. Sel-sel abnormal akan terangsang untuk membentuk lapisan deskuamasi yang patognomonik untuk infeksi pitiriasis versikolor, dalam hal ini *evoked scale sign* dinilai positif.

### 2.3.6.2 *Sukma's PV Sign*

Pasien pitiriasis versikolor datang dengan keluhan makula berbatas tegas, dapat hipopigmentasi, hiperpigmentasi, dan kadang eritematosa, terdiri atas berbagai ukuran dan berskuama halus. Umumnya tidak disertai gejala subjektif, hanya berupa keluhan kosmetik meskipun terkadang ada pruritus ringan. *Sukma's PV Sign* yaitu apabila lesi diregang, akan muncul sisik putih berbatas jelas. Skuama hanya sebatas lesi dengan susunan rapi, teratur, sejajar dengan garis kulit (Tan & Reginata, 2015; Bramono & Budimulja, 2016).

Perbedaan *Sukma's PV sign* dengan penemuan *evoked scale sign* hanya menggambarkan skuama akibat regangan tanpa memperhatikan sisik yang tersusun rapi, sejajar dengan kulit, dan berbatas pada lesi, karena skuama halus juga kadang dapat ditemukan pada pitiriasis alba dan kulit kering (Tan & Reginata, 2015).

### 2.3.7 Diagnosis Banding

Beberapa kelainan dengan klinis yang mirip dan perlu dibedakan dari pitiriasis versikolor, antara lain pitiriasis alba, eriytrasma vitiligo, dermatitis seboroik, pitiriasis rosea, morbus Hansen tipe tuberkuloid dan tinea. Perbedaan karakteristik klinis perlu dicermati, dan pemeriksaan penunjang yang sesuai dapat membantu untuk menegaskan atau menyingkirkan diagnosis (Bramono & Budimulja, 2016).

Pitiriasis alba memiliki lesi hipopigmentasi, asimtomatik dan belum diketahui etiologinya. Pitiriasis alba sering dijumpai pada anak hingga dewasa muda usia 3 – 16 tahun. Lesi berupa makula berbentuk bulat, oval,

*irreguler*, awalnya berwarna merah muda tertutup skuama halus. Kemudian menjadi lesi hipopigmentasi dalam beberapa minggu dan skuama akan berangsur menghilang seiring perjalanan penyakitnya. Pada pitiriasis alba, biasanya *sukma's PV sign* dan *evoked scale sign* negatif. Hal ini dapat dikonfirmasi pada pemeriksaan lampu Wood lesi tidak berpendar berwarna kuning keemasan seperti pada pitiriasis versikolor dan pada pemeriksaan KOH tidak ditemukan hifa dan spora (Tan & Reginata, 2015).

### 2.3.8 Tatalaksana

Sebagai obat topikal dapat digunakan antara lain ketokonazol 2% bentuk sampo, selenium sulfide bentuk sampo 1,8% atau bentuk losio 2,5% yang dioleskan tiap hari selama 15-30 menit dan kemudian dibilas. Pengolesan dianjurkan di seluruh badan selain kepala dan genitalia. Alternatif lain adalah solusio natrium hiposulfit 20%, solusio propilen glikol 50%. Selain itu dapat menggunakan losion selenium sulfida 2,5 % yang diberikan pada daerah lesi selama 7-10 menit, untuk penggunaan harian pada kasus yang lebih berat dapat digunakan 3-4 kali dalam 1 minggu (Bramono & Budimulja, 2016; Gilchrest, *et al.*, 2012).

Untuk lesi terbatas berbagai krim derivat azol misalnya mikonazol, klotrimazol, isokonazol dapat digunakan. Obat topikal sebaiknya diteruskan 2 minggu setelah hasil pemeriksaan dengan lampu Wood dan pemeriksaan mikologis langsung kerokan kulit negatif. Obat sistemik dipertimbangkan pada lesi luas, kambuhan, dan gagal dengan terpai topikal. Antara lain dengan ketokonazol 200 mg/hari selama 5-10 hari atau itrakonazol 200 mg.hari selama 5-7 hari (Bramono & Budimulja, 2016).

### 2.3.9 Prognosis

Prognosis baik jika pengobatan dilakukan secara tekun dan konsisten, serta faktor predisposisi dapat dihindari. Lesi hipopigmentasi dapat bertahan sampai beberapa bulan setelah jamur negatif, hal ini perlu dijelaskan kepada pasien (Bramono & Budimulja, 2016).

### 2.4 Uji Kepekaan Terhadap Antimikroba secara In Vitro

Uji kepekaan antimikroba adalah penentuan terhadap mikroba penyebab penyakit yang kemungkinan menunjukkan resistensi terhadap suatu anti mikroba atau kemampuan suatu anti mikroba dalam menghambat pertumbuhan mikroba secara in vitro dengan tujuan dapat digunakan sebagai anti mikroba yang memiliki potensi untuk pengobatan (Soleha, 2015).

Pengujian dilakukan dibawah kondisi standar, yang berpedoman pada *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)*. Standar yang harus dipenuhi adalah konsentrasi inokulum mikroba, media perbenihan dengan memperhatikan pH, suhu inkubasi, lamanya inkubasi dan konsentrasi antimikroba (Soleha, 2015).

Metode yang biasa dilakukan untuk mengukur kemampuan suatu anti mikroba dalam menghambat pertumbuhan mikroba yaitu metode dilusi dan dilusi agar (Soleha, 2015).



#### 2.4.1 Metode Dilusi

Metode dilusi terdiri dari dua teknik dalam pengerjaannya, yaitu dilusi perbenihan cair dan dilusi agar yang bertujuan untuk menentukan aktivitas antimikroba secara kuantitatif, antimikroba dilarutkan kedalam agar atau kaldu yang kemudian ditambahkan dengan mikroba baik bakteri atau jamur yang akan diuji. Setelah diinkubasi 24 jam, hasil pengamatan yang akan diperoleh berupa tumbuh atau tidaknya mikroba dalam media. Aktivitas zat anti mikroba ditentukan dengan melihat konsentrasi hambat minimum yang merupakan konsentrasi terkecil dari zat anti mikroba uji yang masih memberikan efek dalam menghambat pertumbuhan mikroba uji (Prayoga, 2013; Soleha, 2015).

##### a. Dilusi Perbenihan Cair (Prayoga, 2013; Soleha, 2015)

Dilusi perbenihan cair dilakukan dengan menggunakan sederetan tabung reaksi yang diisi dengan inokulum kuman dan larutan antibakteri dalam berbagai konsentrasi. Terdiri dari mikrodilusi dan makrodilusi. Pada dasarnya pengerjaannya sama hanya berbeda pada volumenya. Untuk makrodilusi volume yang digunakan lebih dari 1 ml, sedangkan mikrodilusi volume yang digunakan antara 0,05 ml sampai 0,1 ml. Antimikroba yang digunakan disediakan dalam berbagai pengenceran biasanya dalam satuan  $\mu\text{g/ml}$ . Konsentrasi bervariasi bergantung dengan sifat dan jenis antimikroba.

Secara umum untuk penentuan kadar hambat minimum, pengenceran antimikroba dilakukan penurunan konsentrasi setengahnya misalnya dari 16, 8, 4, 2, 1  $\mu\text{g/ml}$  dan seterusnya. Lalu

konsentrasi terendah yang menunjukkan hambatan pertumbuhan mikroba dengan jelas dilihat secara visual disebut Kadar Hambat Minimum (KHM).

b. Dilusi agar (Soleha, 2015)

Pada teknik dilusi agar, konsentrasi sesuai pengenceran akan ditambahkan ke dalam agar, sehingga akan memerlukan perbenihan agar sesuai jumlah pengenceran ditambah satu perbenihan agar untuk kontrol tanpa penambahan antimikroba. Konsentrasi terendah anti mikroba yang mampu menghambat pertumbuhan mikroba merupakan KHM antimikroba yang diuji. Salah satu kelebihan metode agar dilusi yaitu untuk penentuan KHM dari mikroba yang tidak dapat tumbuh pada metode dilusi perbenihan cair seperti *Neisseria gonorrhoeae*.

Dasar penentuan antimikroba secara in vitro adalah KHM dan Kadar Bunuh Minimal (KBM). KHM adalah konsentrasi terendah antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba dengan hasil yang dilihat dari pertumbuhan mikroba yaitu jamur atau bakteri dengan hasil yang dilihat dari pertumbuhan koloni pada agar atau kejernihan pada pembiakan cair. Sedangkan KBM adalah konsentrasi terendah antimikroba yang dapat membunuh 99,9% pada biakan selama waktu yang ditentukan (Soleha, 2015).

Penentuan konsentrasi minimum anti mikroba yang dapat membunuh mikroba uji dilakukan dengan menanam mikroba uji pada perbenihan cair yang digunakan untuk uji KHM ke dalam agar yang kemudian

diinkubasi semalam pada suhu tertentu sesuai suhu mikroba yang diujikan. KBM adalah ketika tidak terjadi pertumbuhan mikroba lagi pada agar (Soleha, 2015).

Keuntungan metode dilusi memungkinkan penentuan kualitatif dan kuantitatif dilakukan bersama-sama. KHM dapat membantu dalam menentukan tingkat resistensi dan dapat menjadi petunjuk penggunaan antimikroba. Kerugiannya metode ini tidak menguntungkan karena pengerjaannya yang rumit, memerlukan banyak alat-alat dan bahan serta memerlukan ketelitian dalam proses pengerjaannya termasuk persiapan konsentrasi antimikroba yang bervariasi (Soleha, 2015).

#### 2.4.2 Metode Difusi (Prayoga, 2013; Soleha, 2015)

Pada metode ini, penentuan aktivitas didasarkan pada kemampuan difusi dari zat antimikroba dalam lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan mikroba uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh berupa ada atau tidaknya zona hambatan yang akan terbentuk disekeliling zat antimikroba pada waktu tertentu masa inkubasi. Pada metode ini dapat dilakukan dengan cara cakram.

Cakram kertas yang telah dibubuhkan sejumlah tertentu anti mikroba, ditempatkan pada media yang telah ditanami organisme yang akan diuji secara merata. Tingginya konsentrasi dari anti mikroba ditentukan oleh difusi dari cakram dan pertumbuhan organisme uji dihambat penyebarannya sepanjang difusi anti mikroba (terbentuk zona jernih disekitar cakram), sehingga mikroba tersebut merupakan mikroba yang sensitif terhadap antimikroba.

Hasil dari tes kepekaan, mikroorganisme diklasifikasikan ke dalam dua atau lebih kategori. Sistem yang sederhana menentukan dua kategori, yaitu sensitif dan resisten. Meskipun klasifikasi tersebut memberikan banyak keuntungan untuk kepentingan statistik dan epidemiologi, bagi klinisi merupakan ukuran yang terlalu kasar untuk digunakan. Dengan demikian hasil dengan tiga klasifikasi yang biasa digunakan yaitu sensitif, intermediet dan resisten.

Ukuran zona jernih tergantung pada kecepatan difusi antimikroba, derajat sensitifitas mikroorganisme, dan kecepatan pertumbuhan mikroba. Zona hambat cakram antimikroba pada metode difusi berbanding terbalik dengan KHM. Semakin luas zona hambat, maka semakin kecil konsentrasi daya hambat minimum. Untuk derajat kategori mikroba dibandingkan terhadap diameter zona hambat yang berbeda-beda setiap antimikroba, sehingga dapat ditentukan kategori resisten, intermediet atau sensitif terhadap antimikroba.

Alasan dilakukan uji kepekaan antimikroba adalah untuk mendapatkan agen antimikroba yang tepat untuk pengobatan penyakit infeksi tertentu. Uji sensitifitas antimikroba tidak dilakukan pada setiap spesimen, melainkan hanya dilakukan pada spesimen dengan jenis mikroba tertentu yang belum diketahui secara umum sensitifitasnya terhadap jenis-jenis antimikroba yang umum digunakan (Soleha, 2015).